

## 論文審査の結果の要旨

氏名：塩野目 尚

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Anti-Cancer activity of nickel ion -Inhibitory effect on nuclear factor- $\kappa$ B-

（Ni<sup>2+</sup>イオンによる抗癌作用に関する研究 -NF- $\kappa$ B 活性の抑制を経て-）

審査委員：（主査） 教授 鈴木直人

（副査） 教授 石上友彦

教授 大木秀郎

教授 小宮山 一雄

ニッケル (Ni) は歯科治療に用いられる金属材料に含有され、アレルギーを惹起する原因物質として認識されている。さらに、発癌性を有するとの報告もあり、総じて生体には有害な物質とされている。しかし、癌細胞の増殖抑制やアポトーシス誘導促進など、癌の進展・増殖に対し有効である可能性を示唆する報告もあり、種々の論議がなされている。これまでに著者は、Niイオンが口腔扁平上皮癌細胞株 (oral squamous cell carcinoma cell: OSCC) の自発的 IL-8 分泌を抑制することを明らかにしている。しかし、どのようなメカニズムで Ni が IL-8 分泌を抑制するのかは明らかになっていない。そこで、本研究の著者は、Ni イオンによる IL-8 分泌抑制のメカニズムについて検討した。

実験に用いた培養細胞は、OSCC (HSC3) であり、10% 牛胎児血清加 RPMI1640 培地を用い、37°C, 5% CO<sub>2</sub> 存在下で培養している。また、Ni は、Nickel Chloride Hexahydrate を 1mM に調整し使用している。HSC3 の IL-8 産生に及ぼす Ni イオンの抑制効果は、real-time PCR 法および ELISA 法によって、遺伝子およびタンパクレベルで検討している。IL-8 遺伝子のプロモーター領域への NF- $\kappa$ B の結合は、Luciferase assay で、また、Ni イオンと NF- $\kappa$ B との結合は、Ni カラムを用いた pull down assay によって検討している。さらに、癌の転移・浸潤に重要な MMP の遺伝子発現に及ぼす Ni イオンの影響を real-time PCR 法で調べている。

その結果、以下の結論を得た。

1. Ni イオンは HSC3 の IL-8 分泌を経時的・濃度依存的に抑制した。
2. HSC3 の IL-8 分泌は NF- $\kappa$ B 依存的に転写レベルで調節されていた。
3. Ni イオンは NF- $\kappa$ B p50 subunit に直接結合し核内移行を阻害することで NF- $\kappa$ B 活性を抑制していた。
4. Ni イオンの結合部位は、NF- $\kappa$ B p50 subunit (108, 110, 112 番目のヒスチジン残基クラスター) であることが明らかになった。
5. HSC3 の恒常的な MMP-1, -2, -9 および -14 発現は、Ni イオンによって抑制された。

以上のように本研究は、Ni イオンが癌の転移や進展に関与する NF- $\kappa$ B 活性を抑制することを解明し、癌治療薬としての応用の可能性を示唆したもので、歯科臨床分野に留まらず、癌治療の発展にも寄与するものと考えられた。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成27年3月11日